

**Cellule Lec1 | 305010****Informazioni generali****Description**

La linea cellulare Lec1 è un clone mutante selezionato per la sua resistenza all'agglutinina del germe di grano, derivato dal clone CHO parentale Pro-5. Questo processo di selezione ha portato alla creazione di una linea cellulare con un difetto specifico di glicosilazione, caratterizzato dalla presenza di carboidrati N-legati con un intermedio Man5-GlcNAc2-Asn bloccato. Questo blocco è dovuto all'assenza di N-acetilglucosaminiltransferasi I (GlcNAc-TI), un enzima fondamentale per la progressione della sintesi dei glicani verso forme più complesse. Di conseguenza, le cellule Lec1 accumulano glicoproteine con oligosaccaridi troncati di tipo ad alto contenuto di mannosio.

Le cellule Lec1 sono preziose per lo studio della biosintesi delle glicoproteine, in particolare per comprendere come la glicosilazione N-legata alterata influisca sulla funzione cellulare. I ricercatori utilizzano le cellule Lec1 per studiare l'impatto della glicosilazione sul ripiegamento delle proteine, sulla stabilità, sulla funzione dei recettori e sul traffico intracellulare. Inoltre, queste cellule forniscono una piattaforma unica per lo studio della compartimentazione delle glicoproteine endogene indotte da infezioni virali o dalla trasfezione di DNA estraneo. Le strutture glicane semplificate nelle cellule Lec1 le rendono ideali anche per la produzione di glicoproteine più facili da analizzare in vari contesti sperimentali.

Sono utilizzate principalmente in vitro per studi meccanicistici e applicazioni biotecnologiche che coinvolgono la produzione e l'analisi di glicoproteine.

**Organism** Criceto cinese**Tissue** Ovaio**Synonyms** CHO-Lec1, CHO Lec1, Pro-Lec1.3C, Pro-5 Lec1.3c, Pro-5WgaRI3C**Caratteristiche****Age** Adulti**Morphology** Epiteliale**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Lec1 (numero di catalogo Cytion 305010)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10029

**Cellule Lec1 | 305010**

CellosaurusAccession CVCL\_3440

**Dati biomolecolari****Manipolazione**

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w/o: Ribonucleosidi, w/o: Desossiribonucleosidi, w: 1,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

**Split ratio** da 1: 2 a 1: 4

**Seeding density** Da 2 a 4 x 10<sup>4</sup> cellule/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule Lec1 | 305010

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

## Cellule Lec1 | 305010

### **Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.